



(19) BUNDESREPUBLIK
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES
PATENTAMT

(12) **Offenlegungsschrift**
(10) **DE 196 48 876 A 1**

(51) Int. Cl. 6:
A 61 L 27/00
A 61 F 2/28
C 12 N 5/06
C 12 N 5/08

(21) Aktenzeichen: 196 48 876.1
(22) Anmeldetag: 26. 11. 96
(43) Offenlegungstag: 28. 5. 98

(66) Innere Priorität:
196 47 531. 7 16. 11. 96

(71) Anmelder:
Minuth, Will, Prof. Dr., 93077 Bad Abbach, DE

(74) Vertreter:
Patentanwälte Wasmeier, Graf, 93055 Regensburg

(72) Erfinder:
gleich Anmelder

(56) Entgegenhaltungen:
DE 44 26 315 C1
DE 40 40 872 C2
DE 38 10 803 A1
CH 6 83 747 A5
EP 07 39 631 A2
WO 96 01 641 A1
WO 94 20 151 A1

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen
Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

- (54) Verfahren zum Herstellen eines natürlichen Implantats
(57) Die Erfindung bezieht sich auf ein neuartiges Verfahren zum Herstellen eines natürlichen Implantats für Gewebe des menschlichen oder tierischen Körpers, bei dem (Verfahren) körpereigene Zellen auf einer Zellunterlage unter Verwendung eines Kulturmediums zur Bildung des Implantats vermehrt und/oder differenziert werden.

BEST AVAILABLE COPY

DE 196 48 876 A 1

DE 196 48 876 A 1

Beschreibung

Die Erfinbung bezieht sich auf ein Verfahren gemäß Oberbegriff Patentanspruch 1 oder 3.

Bei dem bisher üblichen und bekannten Tissue-Engineering ist es üblich, eine dreidimensionale Zellunterlage bzw. einer Matrix zu verwenden, auf die die Zellen aufgebracht werden und in der sich die Zellen einlagern können. Diese Matrix besteht beispielsweise aus einem biologisch abbaubaren Stoff, beispielsweise aus einem Milchsäurererivat (Laktat) und ist wegen der erforderlichen Steifigkeit als relativ dickes Vlies ausgebildet. Die Matrix ist mit einem Klebstoff, an der das Anhaften der Zellen ermöglicht, z. B. mit Polylysine beschichtet. Auf diese beschichtete Oberfläche werden dann die Zellen aufgebracht, die in einer Perfusionskammer die Zellen vermehrt und differenziert werden, so daß spezielle Eigenschaften ausgebildet werden können.

Anwendbar ist dieses bekannte Verfahren beispielsweise zum Herstellen von natürlichen Knorpelstücken und auch Knochen. Nicht möglich ist mit diesem bekannten Verfahren aber die Herstellung von Gewebestückchen, die eine in einer bestimmten Form geformte Oberfläche aufweisen, beispielsweise eine konkave oder konvexe Oberfläche mit einem vorgegebenen Verlauf.

Nachteilig ist bei dem bekannten Verfahren auch, daß aus der aus Stabilitätsgründen benötigten Laktat-Matrix Stoffe freigesetzt werden, die die Zellen bzw. das Gewebe schädigen können.

Aufgabe der Erfinbung ist es, ein Verfahren aufzuzeigen, mit welchem die Herstellung eines natürlichen Implantats insbesondere auch ohne eine Laktat- oder Polylaktat-Matrix und mit einer gewünschten Oberflächenform möglich ist.

Zur Lösung dieser Aufgabe ist ein Verfahren entsprechend dem kennzeichnenden Teil des Patentanspruches 1 oder 3 ausgebildet.

Bei dem erfindungsgemäßen Verfahren wird eine dünne, membranartige Zellunterlage verwendet, die lediglich als Auflage für Zellen dient und kein räumliches Gerüst bildet, in welches sich die Zellen einlagern können. Die Zellunterlage ist beispielsweise ein Zuschnitt aus einer körperverträglichen oder biologisch abbaubaren Folic oder ein körpereigenes Flachmaterial, beispielsweise Periost oder Perichondrium. Nicht benötigt wird bei dem erfindungsgemäßen Verfahren als Zellunterlage eine vlies- oder gewebeartige Struktur, die ein dreidimensionales Gerüst für die Zellen bildet und in die sich Zellen einnistieren können. Um ein dreidimensionales Vermehren der Zellen zu ermöglichen, sind die auf der Zellunterlage aufgebrachten Zellen mit einem Material überschichtet, welches demjenigen Material entspricht, das bei Wunden im menschlichen oder tierischen Körper die Einheilung ermöglicht. Als derartiges Kontaktmaterial eignet sich beispielsweise natürliches Blutkoagulat und/oder ein Material, welches dem natürlichen Blutkoagulat entspricht, und/oder ein Fibinkleber und/oder ein Kollagen. Grundsätzlich besteht auch die Möglichkeit, die Zellen vor dem Aufbringen auf die Zellunterlage mit dem für die Überschichtung verwendeten Material zu vermischen bzw. zu polymerisieren und dann dieses Gemisch auf die Zellunterlagen aufzubringen.

Die Überschichtung bildet dann ein Gerüst, in welchem die Zellen sich dreidimensional vermehren bzw. ausbreiten können.

Die dünne Zellunterlage, der die mechanische Steifigkeit oder Festigkeit nicht aufweist, liegt auf der Oberfläche eines porösen Trägers auf. Diese Oberfläche ist dann entsprechend der für das Implantat gewünschten Fläche geformt, und zwar beispielsweise konkav oder konvex. Die Form für die genannte Fläche wird z. B. diagnostisch derart ermittelt,

daß die genannte Fläche des Implantats der Form des Gewebes in dem Bereich entspricht, in welchem das Implantat implantiert werden soll.

Mit dem erfindungsgemäßen Verfahren können natürliche Implantate für die unterschiedlichsten Gewebe des menschlichen oder tierischen Körpers sowie auch mit unterschiedlichsten Funktionen hergestellt werden. Weiterbildungen der Erfinbung sind Gegenstand der Unteransprüche.

Die Erfinbung wird im Folgenden anhand der Figuren an einem Ausführungsbeispiel näher erläutert. Es zeigen:

Fig. 1 in sehr vereinfachter Darstellung ein menschliches Gelenk, z. B. Hüftgelenk mit einem Defekt an einer Gelenkfläche;

Fig. 2 das Gelenk der Fig. 1 zusammen mit einem an der defekten Gelenkfläche eingesetzten natürlichen Implantat;

Fig. 3 einen von einem Metallsieb gebildeten Gewebeträger zur Herstellung des natürlichen Implantats, zusammen mit einer in dicscm Gewebeträger eingeformter Mulde;

Fig. 4 einen Schnitt entsprechend der Linie I-I der Fig. 3;

Fig. 5 eine Darstellung wie Fig. 4, jedoch bei in die Mulde eingelegtem dünnen Zellträgermaterial bzw. Zellauflage sowie bei auf dieser Zellauflage wachsenden patienteneigenen Zellen;

Fig. 6 in vereinfachter Darstellung und im Schnitt eine Perfusions-Kanüle zur Versorgung der patienten-eigenen Zellen während der Bildung des natürlichen Implantats;

Fig. 7 in sehr vereinfachter, schematischer Darstellung eines gesplitteten Knochenbruch mit einem eine Wachstumsbrücke bildenden Implantat.

Die Erfinbung wird nachfolgend anhand der Figuren an einem Verfahren erläutert, welches zum Herstellen eines natürlichen Knochen-Implantats 4 dient. In den Figuren ist 1 ein Hüftgelenk. Im Bereich der Gelenkfläche 2 befindet sich ein Defekt 3, welcher durch das natürliche Implantat 4, d. h. durch ein Implantat 4 hergestellt aus patienten-eigenen Zellen behoben werden soll.

Zur Herstellung des Implantats 4 dient ein scheibenförmiger poröser Träger 5, der beispielsweise aus einem netz- oder siebartigen Material aus Metall oder Kunststoff mit ausreichender Festigkeit hergestellt ist. In den Träger 5 ist eine Mulde 6 eingeformt, die in ihrer Wölbung der Wölbung entspricht, die die Gelenkfläche 2 im Bereich des Defektes 3 aufwies und deren Umfangslinie der Form des Implantates 4 bzw. der dieses Implantat 4 aufnehmenden Ausnehmung 5 im Gelenk 2 entspricht. Die Form der Mulde 7 wird mit einem geeigneten diagnostischen Verfahren, beispielsweise mittels Computertomographie ermittelt.

In die Mulde 7 wird als Zellunterlagenmaterial oder Zellauflage eine dünne Membrane 8 eingelegt, die aus einem als Unterlage für Zellen geeigneten Material besteht, beispielsweise auch aus einem patienten-eigenen, natürlichen Häutchen. Gegebenenfalls ist die Membrane 8 an der dem Träger 6 abgewandten Seite mit einem das Anhaften von natürlichen Zellen 9 fördernden Klebstoff, beispielsweise mit

Fibinkleber, Kollagen, natürlichem Blutkoagulat usw. versehen. Die Membrane 8 ist beispielsweise eine natürliche Haut, z. B. Knochenhaut bzw. Periost oder Perichondrium usw.

Auf der Zellunterlage 8 werden die patienten-eigenen Zellen 9 (Knorpel bzw. Knochen bildende Zellen) aufgebracht. Im Anschluß daran wird die von den Zellen 9 gebildete Zellenlage mit einem das natürliche Wachstum bzw. die natürliche Heilung fördernden oder ermöglichen Stoff überschichtet. Wie bei einer natürlichen Wund-Heilung könnten die Zellen 9 sich dann in dieser Schicht 10 dreidimensional ausbreiten. Mit Hilfe von Haltearmen oder Haltefingern 11 sind die Membrane 8, die Zellen 9 und auch die Überschichtung 10 am Träger 6 gehalten. Die spinnenfußar-

tigen Haltefinger 11 sind beispielsweise am Träger 6 oder an einem diesen Träger 6 tragenden und umschließenden Ring 12 befestigt.

Der Träger 6 wird mit der Membrane 8, den Zellen 9 und der Überschichtung 10 in eine Perfusionskammer 13 eingesetzt, die in der Fig. 6 im Schnitt wiedergegeben ist. Die Perfusionskammer 13 besteht im wesentlichen aus den beiden Gehäuseteilen 14 und 15, von denen das Gehäuseteil 14 eine untere Kammer 16 und das Gehäuseteil 15 eine obere Kammer 17 bildet. Zwischen diesen beiden Kammern ist der Träger 6 mit der Membrane 8, den Zellen 9 und der Überschichtung 10 derart angeordnet, daß der Träger 6 in einer horizontalen oder im wesentlichen horizontalen Ebene liegt und der unteren Kammer 16 zugewandt ist, während die Überschichtung 10 der oberen Kammer 17 zugewandt ist. An der unteren Kammer 16 ist ein Zulauf 18 für ein flüssiges Kulturmedium zum Versorgen der Zellen 9 vorgesehen. An der oberen Kammer 17 ist ein Ablauf 19 zum Abführen des flüssigen, dann auch Stoffwechselprodukte enthaltenen Kulturmediums vorgesehen.

Bei der dargestellten Ausführungsform befinden sich der Zulauf und Ablauf jeweils in der Mitte unter bzw. über dem Träger 6, wobei das Kulturmedium die Kammern 16 und 17 jeweils von unten nach oben durch- und umströmt. Durch die horizontale Anordnung des Trägers 6 ist gewährleistet, daß störende Bestandteile bzw. Stoffwechselprodukte optimal und schnell von den Zellen 9 abgeführt werden.

Nach dem Vermehren und Differenzieren der Zellen 9 in der Perfusionskammer 13 wird der sich dreidimensional ausgebildete Zellenverband aus der geöffneten Perfusionskammer und vom Träger 6 abgenommen und als Implantat 4 in die während der Operation in das Gelenk 1 eingebrachte Ausnehmung 5 eingesetzt. Die Überschichtung 10 liegt dann innen in direktem Kontakt zur Knorpel-Knochen-Grenze. Die Membrane 8 liegt außen und wird beispielsweise nach dem Einsetzen des Implantats 4 abgezogen. Grundsätzlich besteht aber auch die Möglichkeit, die Membrane 8 auf dem Implantat 4 belassen wird, und zwar insbesondere dann, wenn die Membrane 8 aus einem körperfertiglichen und sich im Körper anbauenden Material besteht. Die Membrane 8 liegt außen und dient u. a. als Schutzschicht beim Handling des Implantats 4.

Das hergestellte Implantat 4 hat den Vorteil, daß es ausschließlich aus patienten-eigenen Zellen besteht. Dadurch, daß die Überschichtung 10 innen an der Knorpel-Knochen-Grenze liegt, ist ein schnelles Einheilen bzw. Einwachsen des Implantats 4 gewährleistet. Die bisher beim Tissue-Engineering üblichen Zellunterlagen, die zu einer hohen partiellen Übersäuerung und hieraus resultierenden Gewebeschäden führen, sind vermieden. Weiterhin ist es mit dem beschriebenen Verfahren möglich, die Form des Implantats 4 der jeweiligen natürlichen Form des mit dem Implantat zu versehenen Gewebes optimal anzupassen.

Die Fig. 7 zeigt in sehr vereinfachter Darstellung einen gesplitteten Knochenbruch. Mit 4a ist ein Implantat bezeichnet, welches in diesen gesplittenen Knochenbruch eingesetzt ist und eine Art Wachstumsbrücke bildet. Das Implantat 4a ist grundsätzlich in der gleichen Weise hergestellt, wie dies vorstehend für das Implantat 4 beschrieben wurde. Als Membran 8 bzw. Zellunterlage eignet sich beispielsweise ein Stück Periost, also ein Material, welches auch bei der natürlichen Knochenheilung die Regeneration des Gewebes ermöglicht. Weiterhin kann das beschriebene Verfahren auch für Implantate für andere Gewebe des menschlichen und tierischen Körpers verwendet werden. Insbesondere ist es mit dem erfundsgemäßen Verfahren auch möglich, natürliche Implantate herzustellen, die in bestimmten Geweben als Modul eingesetzt werden und dort Funktio-

nen dieses Gewebes, beispielsweise die Produktion von Insulin übernehmen, die (Funktionen) dem Gewebe z. B. durch Krankheit usw. verlorengegangen ist.

Die Erfindung wurde voranstehend an Ausführungsbeispiele beschrieben. Es versteht sich, daß zahlreiche Änderungen sowie Abwandlungen möglich sind, ohne daß dadurch der der Erfindung zugrundeliegende Erfindungsge-danke verlassen wird. So ist es insbesondere auch möglich, die Zellen 9 vor dem Aufbringen auf die Membran 8 gentechnisch zu verändern, und zwar beispielsweise mit einem speziellen Wachstumsgen, um ein beschleunigtes Wachstum und Differenzieren der Zellen 9 durch die von ihnen erzeugten mitogenen und morphogenen Substanzen zu erreichen.

Mit 12 ist ein Klemmring bezeichnet, mit dem der Träger 6 im Ring 12 befestigt ist.

Bezugszeichenliste

- 1 Gelenk
- 20 2 Gelenkfläche
- 3 Defekt
- 4 Implantat
- 5 Ausnehmung
- 6 Träger
- 25 7 Mulde
- 8 Membran
- 9 Zelle
- 10 Überschichtung
- 11 Haltefinger
- 12 Ring
- 12' Klemm- oder Fixierring
- 13 Perfusionskammer
- 14, 15 Gehäuseteil
- 16, 17 Kammer
- 30 18 Zulauf
- 19 Ablauf

Patentansprüche

1. Verfahren zum Herstellen eines natürlichen Implantats für Gewebe des menschlichen oder tierischen Körpers, bei dem (Verfahren) körpereigene Zellen (9) auf einer Zellunterlage (8) unter Verwendung eines Kulturmediums zur Bildung des Implantats (4) vermehrt und/oder differenziert werden, dadurch gekennzeichnet, daß eine dünne Zellunterlage (8) auf einen porösen Träger (6) aufgelegt und die auf die Zellunterlage (8) aufgebrachten körpereigenen Zellen mit einer Überschichtung (10) aus einem eine natürliche Einheilung ermöglichen oder fördernden Material überdeckt werden.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die körpereigenen Zellen vor dem Aufbringen auf die Zellunterlage mit dem die natürliche Heilung ermöglichen oder fördernden Material vermischt werden.
3. Verfahren zum Herstellen eines natürlichen Implantats für Gewebe des menschlichen oder tierischen Körpers, bei dem (Verfahren) körpereigene Zellen (9) auf einer Zellunterlage (8) unter Verwendung eines Kulturmediums zur Bildung des Implantats (4) vermehrt und/oder differenziert werden, dadurch gekennzeichnet, daß eine dünne Zellunterlage (8) auf einem porösen Träger (6) aufgelegt, daß die körpereigenen Zellen mit einem eine natürliche Heilung ermöglichen oder fördernden Material vermischt, und daß diese Mischung auf die Zellunterlage (8) aufgebracht wird.
4. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprü-

BEST AVAILABLE COPY

che, dadurch gekennzeichnet, daß als Überschichtung (10) ein Material verwendet wird, welches aus wenigstens einem der nachfolgenden Stoffe besteht oder wenigstens einen der nachfolgenden Stoffe enthält,

Fibrinkleber,

5

Kollagen haltiges Material,
natürliches Blutkoagulat und/oder
dem natürlichen Blutkoagulat entsprechendes Mate-
rial.

5. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprü- 10
che, dadurch gekennzeichnet, daß der Träger (aus ei-
nem sieb- oder netzartigen Material), beispielsweise
aus Metall und/oder Kunststoff besteht.

6. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprü- 15
che, dadurch gekennzeichnet, daß der Träger (6) zu-
mindest in einem Oberflächenbereich (7), auf dem die
Zellunterlage (8) aufgelegt wird, der äußeren Form
desjenigen Gewebes (1) entsprechend geformt ist, in
welches das Implantat (4) implantiert werden soll.

7. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprü- 20
che, dadurch gekennzeichnet, daß die Zellunterlage (8)
folienartig ausgebildet ist.

8. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprü- 25
che, dadurch gekennzeichnet, daß die Zellunterlage (8)
von einer dünnen Membran oder von einem dünnen
Häutchen, beispielsweise von einem natürlichen Häut-
chen, z. B. Periost, Perichondrium gebildet ist.

9. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprü- 30
che, dadurch gekennzeichnet, daß die Behandlung der
Zellen (9) mit dem Kulturmedium in einer Perfusions-
kammer (13) erfolgt, in der die Zellunterlage (8) hori-
zontal oder im wesentlichen horizontal angeordnet ist.

10. Verfahren nach Anspruch 9, dadurch gekennzeich- 35
net, daß der Träger (6) mit der Zellunterlage (8) in der
Kammer (13) von unten nach oben mit dem Kulturme-
dium durch- und/oder umströmt wird.

11. Verfahren nach einem der vorhergehenden An- 40
sprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Zellunter-
lage (8) und die auf diesem vorgesehenen Zellen (9)
durch mechanische Mittel am Träger (6) fixiert werden.

12. Verfahren nach einem der vorhergehenden An- 45
sprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Zellunter-
lage (8) vor dem Aufbringen der Zellen (9) mit einem
ein Anhaften der Zellen bewirkenden Medium und/
oder mit Kontaktmaterial, beispielsweise mit einem Fi-
brinkleber versehen wird.

Hierzu 3 Seite(n) Zeichnungen

50

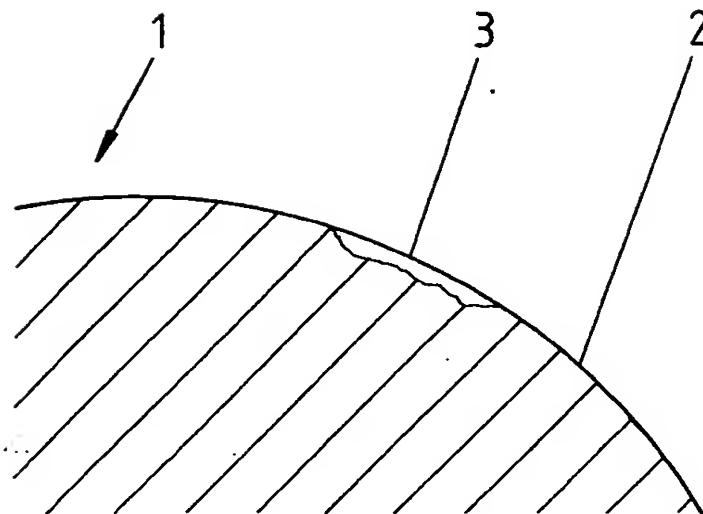
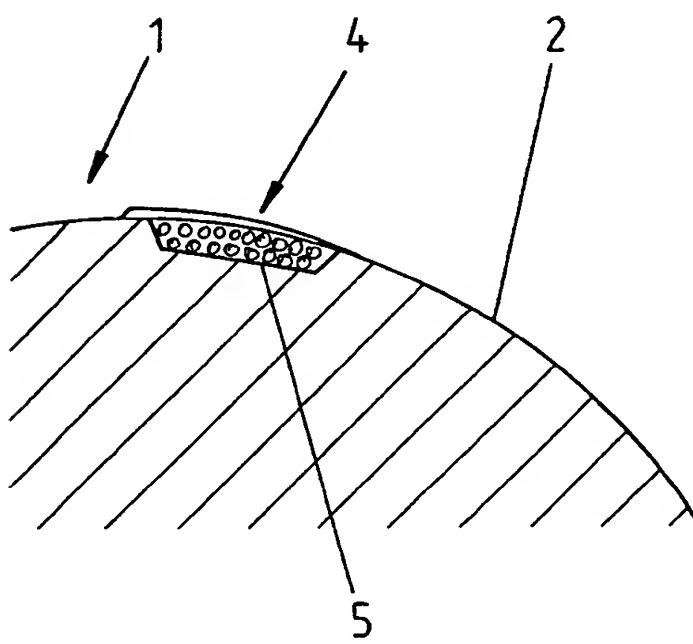
55

60

BEST AVAILABLE COPY

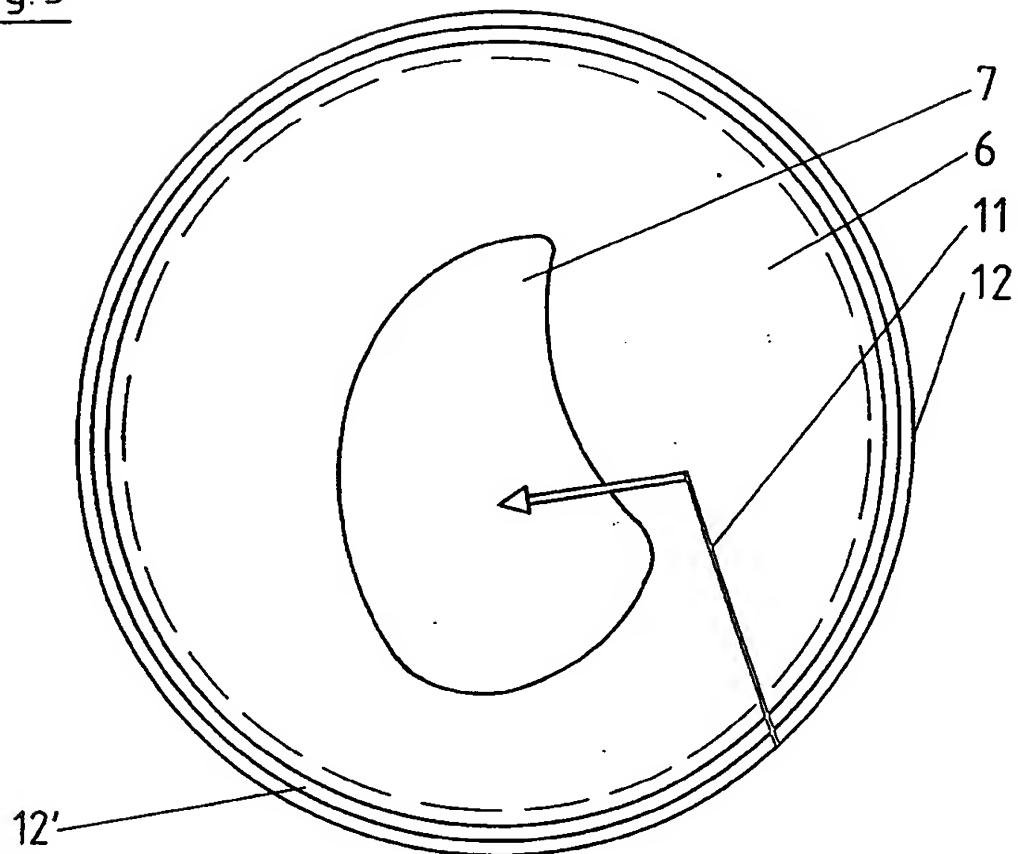
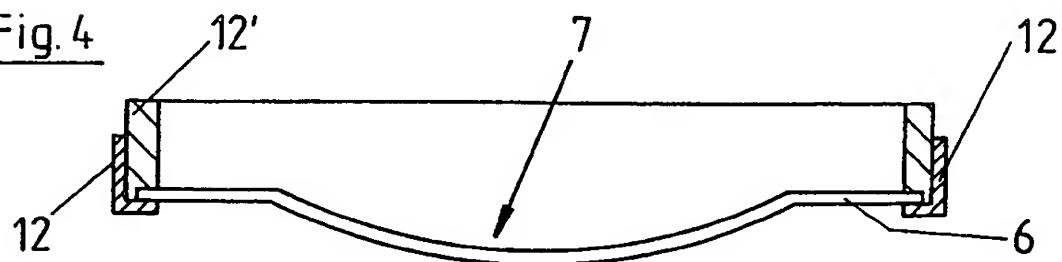
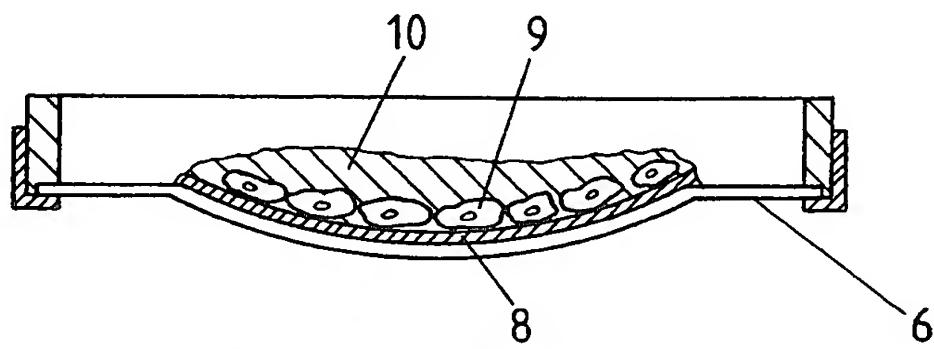
- Leerseite -

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Fig. 1Fig. 2

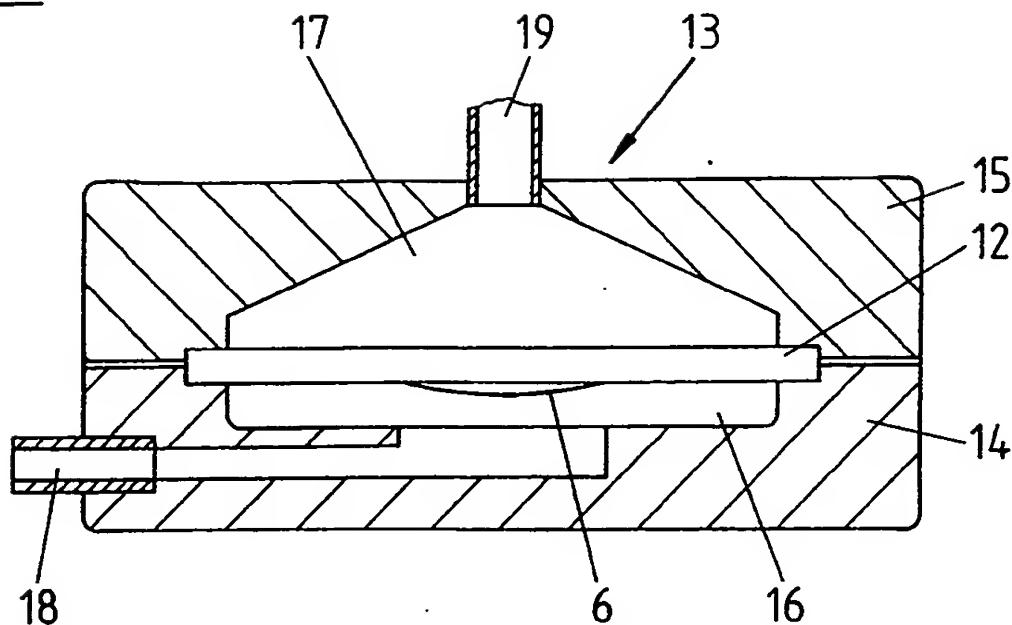
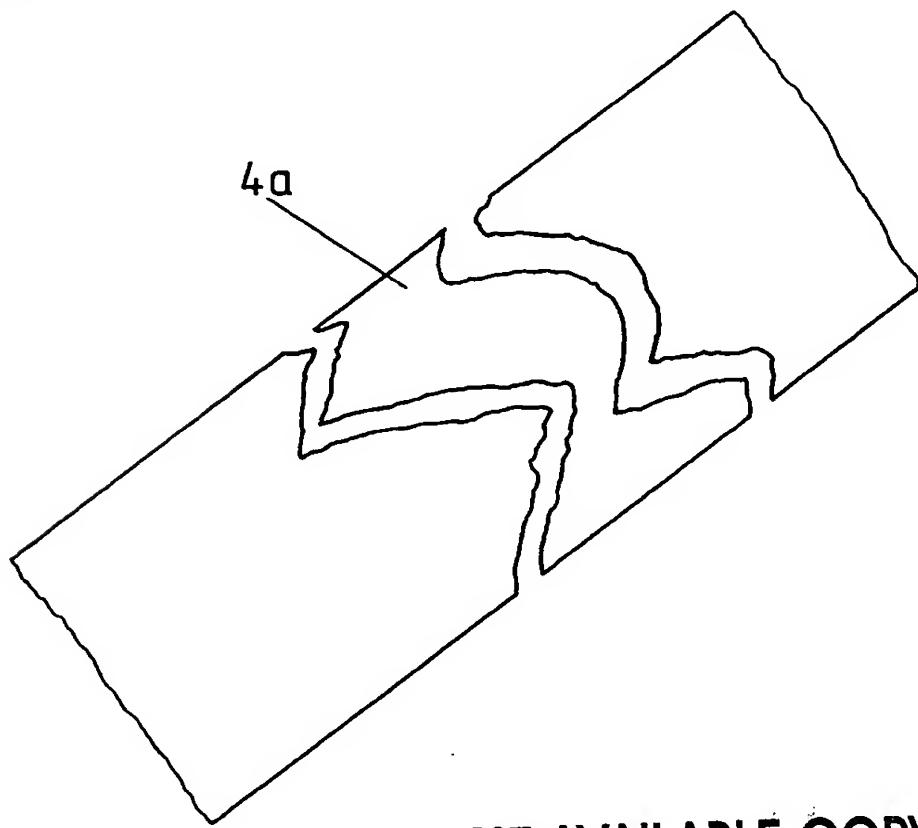
BEST AVAILABLE COPY

802 022/476

Fig. 3Fig. 4Fig. 5

BEST AVAILABLE COPY

802 022/476

Fig. 6Fig. 7

ST AVAILABLE COPY

802 022/476